Product sheet

Клітини HROC32 T3 M1 | 300819

Загальна інформація

Description	Це одна з клітинних ліній із серії пухлинних клітинних ліній, які були створені доктором Міхаелем Ліннебахером із зразків первинної резекції КРР з 2006 року. Ця клітинна лінія була отримана з пухлини HROC32 на пізній стадії.
Organism	Людина
Tissue	Colon ascendens, UICC IV, створена з ксенотрансплантата пацієнта, отриманого з первинної тканини КРР (Colon ascendens, стадія TNM T4N2M1R0L0V1, градація G2, Lk(n) + 9, Σ Lk(n) 14)
Disease	Аденокарцинома
Synonyms	HROC32x

Характеристики

Age	82 роки
Gender	Жінка
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Епітеліальноподібні
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	HROC32 T3 M1 (номер за каталогом Cytion 300819)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D07

Біомолекулярні дані

Клітини HROC32 T3 M1 | 300819

Protein expression	PTEN
Antigen expression	CD15+, CD24+, CD44+, CD55+, CD58+, CD50+, CD 54+, CD66acde+, CD71+, CD102+, CD326+, CD80-, CD86-, EpCAM+, HLA-A2+
Tumorigenic	Так, у голих мишей з пригніченим імунітетом
Viruses	Не містить патогенних вірусів SV40, JC/BK, HBV, HCV, ВІЛ.
Ploidy status	Анеуплоїдний
MSI-status	MSS
Mutational profile	APCwt, p53R282W, K-RasG12A, N-Raswt, H-Raswt SNP rs12628 в кодоні 27, PIK3CAst, BRafwt

Обробка

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 2,5 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 0,5 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO3 (цит. номер 820400a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Doubling time	30 годин
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Seeding density	2×10^4 клітини/см2
Fluid renewal	Кожні 3-5 днів

Клітини HROC32 T3 M1 | 300819

Post-Thaw Recovery	від 1 до 2 тижнів
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Клітини HROC32 T3 M1 | 300819

Flask Coating	Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.